

Série A, N° 921
N° d'ordre 1743

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

ALBERT LIACRE

Docteur en Médecine

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES ALTÉRATIONS DE LA FIBRE NERVEUSE
A MYÉLINE PRODUITES PAR LES FIXATEURS

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 8 Mai 1923, devant la Commission d'examen.

MM. LAPICQUE..... *Président,*
GENTIL..... } *Assesseurs.*
COMBES..... }

“ L'EXPANSION SCIENTIFIQUE
FRANÇAISE ”

23, Rue du Cherche-Midi = PARIS

1923

Série A, N° 921
N° d'ordre 1743

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

ALBERT LIACRE

Docteur en Médecine

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES ALTÉRATIONS DE LA FIBRE NERVEUSE
A MYÉLINE PRODUITES PAR LES FIXATEURS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 8 Mai 1923, devant la Commission d'examen.

MM. LAPICQUE..... *Président,*
GENTIL..... } *Assesseurs.*
COMBES..... }

“ L'EXPANSION SCIENTIFIQUE
FRANÇAISE ”

23, Rue du Cherche-Midi = PARIS

1923

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire . . . P. APPELL.

Professeurs honoraires . . . { P. PUISEUX.
VÉLAIN.
BOUSSINESQ.
PRUVOT.

Emile PICARD	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
Gaston BONNIER	Botanique.
KœNIGS	Mécanique physique et expérimentale.
GOURSAT	Calcul différentiel et calcul intégral.
HALLER	Chimie organique.
JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.)
JANET	Electrotechnique générale.
WALLERANT	Minéralogie.
ANDOYER	Astronomie.
PAINLEVÉ	Mécanique analytique et mécanique céleste
HAUG	Géologie.
H. LE CHATELIER	Chimie générale
Gabriel BERTRAND	Chimie biologique.
M ^{me} P. CURIE	Physique générale et radioactivité.
CAULLERY	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ	Chimie appliquée
G. URBAIN	Chimie minérale.
Emile BOREL	Calcul des probabilités et Physique math.
MARCHIS	Aviation.
Jean PERRIN	Chimie physique.
ABRAHAM	Physique.
CARTAN	Mécanique rationnelle.
Cl. GUICHARD	Géométrie supérieure.
LAPICQUE	Physiologie.
GENTIL	Géographie physique.
VESSIOT	Théorie des groupes et calcul des variations
COTTON	Physique générale.
DRACH	Application de l'analyse à la géométrie.
C. FABRY	Physique
Charles PÉREZ	Zoologie.
Léon BERTRAND	Géologie appliquée et géologie régionale.
DANGEARD	Botanique (Enseignement P. C. N.)
LESPIEAU	Théories chimiques.
LEDUC	Physique théorique et physique céleste.
MONTEL	Mathématiques générales.
MAURAIN	Physique du globe.
WINTREBERT	Anatomie et physiologie comparées.
N.	Botanique.
HÉROUARD	Zoologie
Rémy PERRIER	Zoologie (Enseignement P. C. N.)
SAGNAC	Physique théorique et physique céleste.
RABAUD	Biologie expérimentale.
PORTIER	Physiologie.
BLAISE	Chimie organique.
PÉCHARD	Chimie (Enseignement P. C. N.)
AUGER	Chimie analytique.
M. GUICHARD	Chimie minérale.
GUILLET	Physique.

Secrétaire Daniel TOMBECK.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR DASTRE

(In memoriam).

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAPICQUE,

Mon Président de thèse, en remerciement
et en reconnaissance de son accueil, de
ses conseils et de l'aide bienveillante
que j'ai toujours trouvée chez lui pen-
dant plusieurs années, et particulière-
ment à l'occasion de ce travail.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Recherches sur les altérations DE LA FIBRE NERVEUSE A MYELINE produites par les Fixateurs

INTRODUCTION

Il semble que, depuis longtemps déjà, les méthodes de ce qu'on est convenu d'appeler la fixation, en histologie, sont assez minutieuses et que leurs effets sont assez connus pour qu'on en puisse tirer une connaissance extrêmement précise et exacte des tissus animaux et végétaux.

Sur le conseil de MM. Lapicque et R. Legendre qui, à ce moment, étudiaient les modifications morphologiques de la gaine de myéline et les modifications correspondantes de l'excitabilité produites par certaines substances (1), j'ai entrepris l'étude systématique de l'action des fixateurs sur la fibre nerveuse à myéline. C'est le résultat de ces recherches, résumées dans une note précédemment parue (2), que j'apporte ici.

(1) L. et M. LAPICQUE et R. LEGENDRE. — Changement d'excitabilité des nerfs conditionné par une altération de leur gaine de myéline. *C. R. Acad. Sc.*, t. 158, p. 803, 16 mars 1914.

Id. — Sur les altérations de la gaine de myéline produites par les différents poisons nerveux. *C. R. Acad. Sc.*, t. 158, p. 1592, 2 juin 1914.

(2) A. LIACRE. — Les liquides fixateurs et les fibres nerveuses à myéline. *C. R. Soc. Biol.*, 11 mars 1922, tome LXXXVI, p. 530.

Il n'est guère question, dans ce travail, que d'un exposé de faits : l'interprétation pour presque tous en est à chercher, car elle repose entièrement sur les données les plus délicates de la chimie physique. Quoi qu'il en soit, ces faits, par leur nombre et leur constance, s'opposent formellement aux grandes lignes, généralement admises, de la technique histologique.

Tous les traités et manuels d'histologie enseignent qu'il faut, par la fixation, *sidérer* en quelque sorte un tissu de façon à saisir les éléments cytologiques dans leur forme vivante et à ne pas laisser de lentes modifications en dénaturer l'aspect. Toute la technique de la fixation repose sur cette donnée. Certains caractères macroscopiques que présentent les tissus à la suite de l'action des fixateurs, rigidité, dureté, s'opposent dans l'esprit à la déformabilité, à la friabilité des tissus vivants. C'est, d'une part, à partir de ces caractères que, empiriquement, la technique histologique s'est organisée et c'est, d'autre part, sur un matériel d'étude préparé par ce moyen que se sont exercées les hypothèses cherchant à expliquer le mode d'action des fixateurs.

Que cherche en effet à obtenir l'histologiste ? Des pièces qu'on puisse facilement débiter au microtome, — je passe sous silence les examens à l'état frais que l'on dédaigne trop souvent, — et, après toute la série des manipulations, des préparations bien colorées, parfaitement transparentes. Il semble en effet que l'esprit doive considérer comme naturels de :

formes, des rapports, des proportions, si nets, si clairs, si lumineux, si constants.

Cependant, dès le début, certains savants ont pensé qu'on ne soumettait pas impunément des matériaux aussi fragiles que les tissus vivants à l'action de substances aussi nocives que les liquides fixateurs et ont cherché à analyser l'action de ceux-ci. Mais, presque toujours, leurs investigations ont porté non sur des tissus organisés, mais sur certains constituants de l'organisme relativement simples, tels que le blanc d'œuf, la serumalbumine, etc.

Fischer a conclu de ses recherches que la plupart des faits de structure révélés par les méthodes histologiques sont artificiels. D'autres expérimentateurs, parmi lesquels Schwarz, Bütschli, Ianosik, à la suite de recherches semblables, sont arrivés aux mêmes conclusions. Mais toutes ces expériences sont passibles d'une même critique : elles ne portent pas sur des tissus organisés, sur des cellules, et elles ne peuvent pas servir à faire la critique des méthodes histologiques, comme l'ont fait remarquer Rhumbler, Henneguy et Bolles Lee.

D'autres auteurs, comme A. Pettit et Girard (1), échappant à ces critiques, ont étudié sous le microscope l'action des différents fixateurs sur les tissus vivants. Mais on peut leur objecter qu'ils ont employé

(1) A. PETTIT et GIRARD. — Action de la muscarine et de l'éther sur les cellules de revêtement des plexus choroïdes des ventricules latéraux. *C. R. Soc. Biol.*, 27 juillet 1901.

les fixateurs en petite quantité et que, dans ces conditions, les tissus ne pouvaient pas être sidérés.

Donc, des travaux critiques qui ont été entrepris au sujet des méthodes de fixation, les uns n'ont pas porté sur l'objet d'étude de l'histologie, c'est-à-dire des tissus ou des cellules, mais ont employé la technique de fixation classique, — les autres ont bien porté sur des tissus, des cellules, mais n'ont pas employé la technique classique.

Aussi, cette technique, résistant aux critiques, s'est enrichie de méthodes toujours plus nombreuses. Sa complexité est telle qu'on a pu dire : « les progrès de notre science (l'histologie) dépendent presque entièrement de la technique » (1), à une époque où cette technique était encore assez simple, et sa minutie est si exacte qu'elle semble conférer nécessairement cette exactitude aux travaux qui lui sont dus.

Les directives de la technique histologique. — Le choix, la préparation, l'emploi des fixateurs tendent à remplir les conditions idéales suivantes :

1° Ils doivent conserver la forme des éléments cellulaires, par conséquent ne provoquer ni rétraction, ni dilatation, soit de l'ensemble de la cellule, soit d'une ou plusieurs de ses parties. Les formations intracellulaires doivent donc conserver leurs formes et leurs positions respectives à l'intérieur de la cellule.

2° Les coagula provoqués par les fixateurs doivent

(1) L. RANVIER. — Leçons sur l'Histol. du syst. nerveux, 1878, t. I, p. 24.

être insolubles dans un excès de fixateur, dans l'eau, et rester intacts malgré l'action des liquides employés après la fixation (alcools, xylol, etc.).

3° Le fixateur doit posséder une vitesse de diffusion telle qu'il provoque une coagulation instantanée.

4° Le fixateur doit être en quantité assez abondante pour que sa composition ne soit pas modifiée par les liquides organiques contenus dans la pièce à fixer.

Certaines précautions doivent en outre être observées en ce qui concerne la position dans le fixateur de la pièce à fixer : il faut que le fixateur ait libre accès de toutes parts.

Aucun des corps que l'on a employés comme fixateurs ne répond complètement à ces conditions, et l'on a cherché à atténuer ou à supprimer les inconvénients des fixateurs simples (ex. : acide picrique, acide osmique, sublimé) par l'emploi des fixateurs combinés.

Mais ceux-ci ne sont pas à l'abri des critiques non plus. Le liquide de Müller est un mauvais fixateur des substances nucléaires. Les mélanges de Flemming fixent trop les couches superficielles des tissus. Les liquides formolés (liquides de Blum : formol à 10 %, — de Hoyer : formol à 40 %, — de Parker et Floyd : mélange de 2 parties de formol à 2 % avec 3 parties d'alcool à 95 %, — liquides de Sjöbring, Weigert, Lachi, van Gieson, etc.) sont considérés par un certain nombre d'auteurs comme de bons fixateurs du tissu nerveux, par R. Legendre au contraire comme de mauvais fixateurs de la cellule nerveuse. Nageotte a

particulièrement insisté sur le caractère artificiel du réseau de neurokératine dû à l'action du formol (1).

Ces différences d'appréciation existent à propos de tous les fixateurs. Heidenhain employait presque exclusivement le sublimé et Henneguy trouve son action trop brutale. Mann considère le sublimé comme un très bon fixateur, R. Legendre comme un très mauvais. Le mélange d'Apathy contient de l'alcool, (dont Ranvier dit que c'est un fixateur à peu près abandonné), et du sublimé. Lenhossek ajoute de l'alcool à la formule d'Apathy.

En fait, les auteurs ne s'accordent pas sur le choix des fixateurs ni sur leurs qualités. J'ai étudié leur action sur la fibre nerveuse à myéline et esquissé une tentative d'explication des déformations observées en les rattachant à certains faits connus en chimie physique. Dans toutes les observations rapportées, il s'agit de nerfs de grenouille.

(1) C'est un des exemples typiques de l'importance de l'interprétation en histologie. Le réseau de neurokératine a été considéré comme réel par Kühne, Ewald, Gedœlst, et comme un artefact par Gerlach, Ranvier, Nageotte.

CHAPITRE I

Examen de la fibre nerveuse à myéline à l'état frais

Technique employée. — C'est celle qui a été indiquée par R. Legendre (1) et dont voici l'essentiel. Incision circulaire de la peau de la patte postérieure de la grenouille, puis deux incisions longitudinales branchées sur la précédente, au-dessus et au-dessous. Les lambeaux obtenus sont relevés vers la cuisse et rabattus vers le pied, ce qui découvre la jambe. On aperçoit le sciatique qui se divise en deux branches, nerf péronier et nerf tibial, très faciles tous deux à isoler du tissu cellulaire lâche dans lequel ils sont plongés. On choisit, pour l'examen, l'une ou l'autre de ces deux branches. Avec une paire de ciseaux fins dont on passe une branche entre la jambe et le nerf délicatement et

(1) R. LEGENDRE. -- Dispositif pour l'examen des nerfs vivants avec leurs connexions anatomiques intactes et leur fonctionnement normal. *C. R. Soc. Biol.*, 14 mars 1914, p. 432.

très peu soulevé, et l'autre branche sous la jambe, on sectionne celle-ci en deux endroits. On répète la même opération au niveau de la cuisse de façon à enlever un segment entier, comprenant muscles et os. Les segments qui restent de la jambe et de la cuisse ne sont plus réunis que par le nerf qu'on va examiner. Une lame de liège est préparée pour recevoir une lame de verre sur laquelle reposera le nerf. Celui-ci est recouvert lui-même d'une lamelle cornée aux quatre coins à la flamme d'un bec Bunsen (1). Pour que le nerf ne se dessèche pas, il est bon, avant de le placer sur la lame de verre, de verser sur celle-ci quelques gouttes de Ringer. La nature du liquide est essentielle. Un liquide isotonique de composition sensiblement analogue à celle du sérum de l'animal permet seul de faire des examens de longue durée. Dans l'eau ordinaire apparaissent assez rapidement des déformations de la myéline, déjà signalées par Ranvier et vues par Henle, ce qui entraîna de la part de ce dernier des erreurs capitales d'interprétation.

Si l'on a pris soin de faire cette préparation sans brusquerie, de manière à ne pas exercer de tiraillements sur le nerf, les fibres nerveuses apparaissent avec une remarquable netteté, particulièrement sur les bords du nerf où l'épaisseur est la plus faible.

Les bords de la gaine de myéline sont rectilignes et parallèles, et son épaisseur est très différente de ce que

(1) R. LEGENDRE. — Simple tour de main pour obtenir une chambre humide microscopique. *Soc. Biol.*, 14 fév. 1914, p. 265.

nous montrent des schémas classiques : elle est très mince et les deux rubans de myéline parallèles, qu'on aperçoit en coupe optique, limitent de chaque côté un ruban central, beaucoup plus large, qui est le cylindre-axe. Ces deux rubans de myéline forment à eux deux un peu plus du quart de l'épaisseur totale de la fibre, tandis que, dans le schéma classique, la myéline est épaisse et le cylindre-axe réduit à un mince ruban axial. C'est la disposition représentée par la première fibre nerveuse de chaque série de dessins figurant à la fin de ce travail. Par son aspect réfringent, la myéline est très facile à distinguer du cylindre-axe qui est plus terne. Il y a un peu entre les deux la même différence qu'entre une tache de soleil et la lumière diffuse.

La myéline est coupée de place en place par *les incisions de Schmidt-Lantermann* qui se voient très facilement. Elles coupent la myéline obliquement et sont exactement symétriques par rapport à l'axe de la fibre. La fente très étroite qui coupe la myéline à leur niveau a l'aspect de lumière diffuse du cylindre-axe.

En faisant varier très légèrement la mise au point, on arrive à distinguer très nettement la *gaine de Schwann* qui n'est pas réfringente comme la myéline, mais l'est cependant plus que le cylindre-axe. Son épaisseur est environ le tiers de celle de la gaine de myéline.

De place en place, on voit un *noyau* de la cellule de Schwann. Mais c'est en le cherchant, tandis que la configuration ci-dessus saute aux yeux lorsqu'on est un peu habitué à regarder des préparations si diffé-

rentes de ce que montrent les préparations histologiques habituelles.

Les *étranglements de Ranvier* sont aussi très nets. Nageotte dit que la forme des étranglements n'est pas la même chez les Batraciens et les Mammifères (1), ce que je n'ai pas vérifié, mes examens n'ayant porté que sur des nerfs de grenouille. Nageotte précise ainsi cette différence : « Au lieu de se terminer par des coupes régulièrement arrondies à l'état frais, les segments interannulaires se renflent en ampoules au voisinage de l'étranglement et ces ampoules sont remarquables par leurs plis très accentués; Ranvier a parfaitement décrit ces plis... ». Mais Ranvier ne fait pas de différence comme Nageotte entre les nerfs de Batraciens et ceux de Mammifères : « Chez le lapin, chez la grenouille et chez la plupart des vertébrés, dit-il, le tube nerveux se termine au niveau de l'étranglement annulaire par un léger renflement... » (2). Mais cette description est celle d'un fragment de nerf en état, suivant l'expression de Ranvier, *d'extension physiologique*. Or cet état est artificiel et il faut un certain nombre de manipulations pour l'obtenir (3). D'ailleurs Nageotte, dont la description, sauf la différence signalée plus haut, concorde avec celle de Ranvier, n'est pas partisan de cette extension physiologique. « Ceci montre que le précepte donné, et universellement suivi,

(1) J. NAGEOTTE. — L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie, p. 226.

(2) L. RANVIER. — *Loc. cit.*, T. I, p. 59.

(3) L. RANVIER. — *Loc. cit.*, T. I, p. 53.

de tendre artificiellement les nerfs avant de les fixer, présente de grands inconvénients » (1).

Il la critique encore ailleurs (2).

Enfin la description de Ranvier porte sur des pièces traitées à l'acide osmique et non sur des nerfs à l'état frais.

J'ai constaté que l'extrémité du segment interannulaire se terminait en forme de fuseau un peu allongé. Il est très difficile de voir comment se raccorde, à ce niveau, la gaine de myéline avec les parties voisines, s'il y a ou non une solution de continuité. Nageotte décrit une disposition feuilletée de la myéline qu'on retrouverait particulièrement au niveau de l'étranglement interannulaire et des incisures de Schmidt-Lantermann lorsque, par un traumatisme, les bords en ont été écartés. Ce dernier point est exact. Mais, il y a eu traumatisme.

En ce qui concerne les stries dues au feuilletage de la myéline au niveau des étranglements, — feuilletage qui serait facilement constatable à cet endroit, mais existerait tout le long des segments interannulaires, — les figures qu'en donne Nageotte ne se rapportent qu'à des fibres dissociées (3). Ensuite, le nombre de stries représentées sur les photographies ne concorde nulle-

(1) J. NAGEOTTE. — L'organis. de la mat., etc., p. 243.

(2) J. NAGEOTTE. — Les Etranglements de Ranvier. (Les étranglements de Ranvier et la gaine de Schwann. c) Fix. au formol, dissociat., colorat. à l'hématéine). *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, 1910.

(3) J. NAGEOTTE. — Organis. de la mat., etc., fig. 17, 18, 19, p. 224 et 225.

ment avec le nombre de feuillets figurant dans le schéma qui représente un clivage traumatique au niveau d'une incisure (1). Nageotte lui-même a d'ailleurs signalé une contradiction analogue entre le nombre de cercles concentriques qu'on aperçoit sur les coupes transversales des nerfs, après fixation au bichromate acétique et coloration par l'hématoxyline au fer, et le nombre de feuillets obtenus par clivage mécanique (2), ce qui s'expliquerait *si l'on suppose que les lamelles élémentaires sont groupées périodiquement en feuillets composés*. Sans discuter le fait que les *bracelets épineux* s'adaptent exactement aux fentes qui séparent les feuillets de myéline (3), ce qui pour Nageotte constitue une preuve de l'existence de ceux-ci, l'existence du feuilletage de la myéline sur toute la longueur de la gaine ne paraît pas démontrée, pour la raison suivante : quelle que soit la violence des traumatismes, on ne voit des feuillets qu'en des points limités, toujours les mêmes. Après certaines techniques qui exagèrent ces artefacts (4), on ne constate ce clivage qu'aux mêmes endroits.

(1) NAGEOTTE. — *Ibid.*, p. 221.

(2) *Ibid.*, fig. p. 228, texte p. 229.

(3) Il n'est pas démontré que les bracelets épineux ne sont pas dus à un artefact. Un clivage traumatique de la myéline au niveau de l'étranglement, point faible comme les incisures, permettant, grâce à des phénomènes de capillarité et d'adsorption de matières colorantes, la formation des bracelets épineux, est une interprétation plausible, qui n'a d'ailleurs, je le reconnais, qu'une valeur très hypothétique.

(4) Cf. plus loin : L'action des solutions alcooliques de Soudan III.

CHAPITRE II

Action des fixateurs

Cette action a été étudiée de la façon suivante : Le nerf a été préparé comme pour l'examen à l'état frais. On place alors, d'un côté de la lamelle, un fragment de papier buvard de telle façon que le bord qui est en contact avec la lamelle ait une section nette et s'applique exactement à la ligne de séparation de la lame et de la lamelle. On dépose ensuite, à l'aide d'un compte-gouttes, du côté opposé, quelques gouttes de fixateur, de façon à former une traînée de liquide le long du bord de la lamelle, sans que le liquide déborde sur celle-ci, ce qui rendrait l'observation impossible. De cette façon, il se produira un courant très régulier, vers le papier buvard, qui baignera rapidement le nerf.

Dans une seconde série d'observations, les nerfs ont été fixés par la méthode habituelle avant ou après dissociation, et les examens portant sur ces nerfs dissociés ou entiers ont été comparés aux résultats de la première série.

Les dessins ont été faits à la chambre claire, au fur

et à mesure que se produisaient les déformations, à des intervalles de quelques minutes.

A. Action des fixateurs employés goutte à goutte

1. ALCOOL

Alcool à 95°. — Au bout de quelques minutes apparaissent des déformations : la myéline devient plus épaisse, irrégulière sur son bord axial, et beaucoup moins réfringente. Quelques minutes plus tard se forme une sorte de réseau très irrégulier, très réfringent, dans toute la largeur de la fibre, réseau dont les trabécules se continuent avec la myéline (1). C'est sans doute là un des stades de la formation du réseau de neurokératine d'Ewald et Kühne. Le cylindre-axe n'est plus visible. Au bout d'une heure ou deux, les modifications sont beaucoup plus lentes et si l'on continue à ajouter du fixateur, puis qu'on laisse séjourner le nerf dans le liquide entre lame et lamelle, après avoir enlevé le papier buvard et avoir placé la préparation sous une cloche, de façon à éviter la dessiccation, on observe, au bout de 24 heures, l'aspect suivant. On distingue nettement la gaine de Schwann, puis la myéline qui est comme cristallisée, grisâtre, limitée sur son bord axial par une ligne nette bien qu'irrégulière et enfin, au centre, le cylindre-axe, excessivement étroit,

(1) J. NAGEOTTE. — Note sur la formation des réseaux artificiels dans la gaine de myéline. *C. R. Soc. Biol.*, 24 décembre 1910.

semé sur toute son étendue de ponctuations extrêmement fines. (Cf. *Pl. I, fig. 1.*)

Cette action de l'alcool est constante. Elle se produit même lorsqu'on a réduit la myéline à l'état d'émulsion, par écrasement d'un fragment de moelle dans du Ringer. On voit alors des sphères dont la paroi à double contour est très réfringente (2). Dans l'alcool à 95°, ces sphères disparaissent et se fondent les unes dans les autres en une masse cristalline, semblable à celle qui a été décrite plus haut.

Cette altération de la myéline de la fibre nerveuse provoquée par l'alcool ne dépend d'aucun autre facteur que la myéline et l'alcool, puisqu'elle se produit sur la myéline en dehors de la fibre nerveuse.

Eau alcoolisée à 9 %. — Ce mélange, qui correspond à un mélange de 10 cc. d'alcool à 90° pour 100 cc. d'eau distillée, provoque des altérations différentes de celles qui viennent d'être décrites. Au cours d'une observation, choisie parmi d'autres, dont on ne voit ici que les deux stades extrêmes (début à 6 h. 14, fin à 7 h. 2), je n'ai obtenu qu'un gonflement irrégulier de la myéline, qui perd légèrement son aspect réfringent. On remarque dans la *figure 2 de la Pl. I* un écartement des bords des incisures ainsi que les feuilletts qui les réunissent. Il s'agit sans doute là d'altérations dues à l'action non pas *fixatrice*, mais *dissociatrice* de l'alcool faible (alcool au 1/3 de Ranvier, mélange de Böhm et Oppel : 28 cc. d'alcool absolu et 72 cc. d'eau, alcool au 1/4 de Thin, de Rawitz, etc.).

(2) Cf. Chapitre : Tension superficielle.

Si, au cours d'une observation identique, on ajoute 2 à 3 gouttes d'alcool à 95° pur, rapidement apparaît un état cristallin de la myéline, ce qui rend évidente la différence d'action de l'alcool à 95° et de l'eau alcoolisée à 9 %.

2. SOLUTION ALCOOLIQUE DE SOUDAN III

On retrouve, mais exagérées, les déformations provoquées par l'alcool faible lorsqu'on emploie des solutions alcooliques de Soudan III. Les titres de ces solutions varient suivant les auteurs. P. Mayer (1) se sert pour la coloration des graisses d'une solution saturée de Soudan III dans l'alcool à 70°, Mann dans l'alcool à 80°. Daddi s'est servi de ces solutions pour colorer la myéline après fixation dans le Müller. J'ai employé la solution à saturation dans l'alcool à 70°.

Cette solution provoque les altérations figurées dans la *Fig. 3 de la Pl. I*. Ce qui domine ici, c'est une sorte de vacuolisation de la myéline. Quel que soit d'ailleurs le degré de l'alcool, l'aspect est à peu près identique. Les incisures ont subi une déformation très curieuse que l'on voit dans les dessins comme des sortes de plaques grillagées. Les travées qui séparent les loges doivent résulter de la fusion de plusieurs des feuillettes visibles après un traumatisme, car les feuillettes sont plus nombreux que ne le sont ici les travées. Autre caractère très net, la myéline est non seulement gon-

(1) LEE et MAYER. — Grundzüge d. mik. Technik, 397 (1901).
Cit. par MANN. *Physiol. Hist.*, p. 306.

(2) MANN. — *Ibid.*, p. 306.

flée, mais s'étale en coulées très fluides : la composition du Soudan III qui est le nitro-benzène-nitronaphtol β permet sans doute d'attribuer cette diminution de la tension superficielle de la myéline à la présence du groupe benzène.

L'action si différente des solutions alcooliques du Soudan III sur des nerfs frais et sur les nerfs préparés suivant la méthode de Daddi est un des nombreux faits prouvant qu'il faut voir autre chose dans la fixation qu'un procédé commode permettant les manipulations ultérieures.

3. ACIDE OSMIQUE

Les principaux fixateurs contenant de l'acide osmique sont : les mélanges de Flemming, A, B, D et J, de Laguesse, de Lindsay. On peut encore employer les liquides d'Hermann, d'Altmann, de Von Rath, etc.

L'acide osmique à 1 ou 2 p. 100 est avec le Müller le fixateur qui provoque dans la fibre nerveuse les altérations les moins accentuées. Il conserve assez bien la forme générale de la gaine de myéline et, au bout d'une demi-heure d'observation, on ne remarque qu'une coloration gris foncé de toute l'épaisseur de la gaine et des granulations fines dans le cylindre-axe (*Fig. 4, Pl. I*). Les liquides de Laguesse ont une action tout à fait comparable, tandis que celle du Flemming (1) qui contient aussi de l'acide osmique est très différente. Mais le liquide de Flemming a une teneur beaucoup plus forte en acide chromique.

(1) Cf. Chapitre : Acide chromique et Flemming.

On considère à tort OSO^4 comme un réactif spécifique des corps gras à cause de la coloration noire qu'il donne à leur contact par réduction à l'état d'osmium. Sans doute, cette réduction, au contact des corps gras, se fait très rapidement (voir plus loin le rôle joué par l'acide oléique) . mais elle se fait spontanément à la lumière dans la solution d' OSO^4 .

De plus, tous les éléments cellulaires sont fixés par l'acide osmique, qui est d'ailleurs un meilleur fixateur pour le protoplasme que pour le noyau et on recommande de laver soigneusement les pièces ainsi fixées pour enlever toute trace d'acide osmique et éviter le noircissement.

Enfin, en histologie végétale, on colore également par l'acide osmique les corps gras et les essences. Cette similitude de réaction des corps gras et des essences se retrouve avec d'autres colorants : teinture d'orcanette et solution de Soudan III, ce qui d'ailleurs prouve, en même temps que la non-spécificité d'action de l'acide osmique, la présence d'un principe commun dans les corps gras et les essences. Celles-ci étant constituées en partie par des éthers, peut-être contiennent-elles à l'état libre une certaine proportion d'acides gras, parmi lesquels seule serait importante la présence d'acide oléique.

Il y a des degrés dans la coloration des corps gras par l'acide osmique. Mott et Halliburton (1) ont étudié

(1) MOTT et HALLIBURTON. — *Phil. Trans. Roy. Soc., London*, 194, 437 (1902).

les variations d'intensité de cette coloration dans la dégénération des nerfs. L'intensité est d'autant plus grande que la dégénération est plus avancée. C'est sur ce principe qu'avait été créée la méthode de Marchi. Altmann fut le premier, en 1894, à considérer que la réduction de l'acide osmique par les corps gras est due uniquement à l'acide oléique et à l'oléine. L'acide oléique ($C^{17}H^{33} - CO.OH$) est en effet un acide gras non saturé, au contact duquel s'opère facilement la réduction d' OsO^4 à l'état d' OsO^2 . C'est par conséquent à la présence de cet acide, dont les processus pathologiques expliqueraient la plus grande abondance dans les nerfs malades que dans les nerfs sains, qu'il faut attribuer la coloration plus intense des nerfs dégénérés.

Enfin, l'acide osmique n'est pas un électrolyte. C'est en effet à tort qu'on l'appelle acide osmique. C'est la raison principale, généralement invoquée, pour laquelle il déformerait moins les cellules que les autres fixateurs.

4. ACIDE CHROMIQUE ET FLEMMING

Acide chromique. — Le titre de la solution employée est 1 %. L'action de cette solution est d'une rapidité et d'une brutalité surprenantes. On voit dans les dessins de la *Fig. 5, Pl. I* la marche des déformations. Elles apparaissent au bout de 2 ou 3 minutes. A peine une demi-heure après, les fibres nerveuses sont méconnaissables. Les figures, mieux qu'une description, impossible d'ailleurs, en montrent les différents stades.

Flemming. - Ce fixateur produit les mêmes déformations. Je n'ai essayé que la solution forte, qui contient 15 cc. d'acide chromique à 1 % pour un volume total de 20 cc., soit 15 centigrammes d'acide chromique, au lieu de 20 centigrammes que contiendrait un même volume de la solution d'acide chromique à 1 %. Malgré cette quantité un peu plus faible d'acide chromique dans le Flemming, les deux solutions provoquent les mêmes altérations : vacuolisation intense, contact des bords opposés en de nombreux points, aspect très brillant de la myéline. (*Cf. Fig. 1, Pl. II.*)

C'est un des meilleurs exemples de l'atteinte profonde que subit la fibre à myéline sous l'action des fixateurs. Ranvier (1) avait décrit la forme étoilée que prend le cylindre-axe au cours de la fixation par l'acide chromique, avait rapproché cet artefact de la description faite par Roudanowski d'un artefact semblable provoqué par une autre méthode. Mais cet auteur avait vu là l'image de l'état réel de la fibre nerveuse. Ranvier, à l'occasion de cet exemple, conclut : « Une forme, même très nettement marquée et qui paraît constante... peut être due entièrement à des causes extérieures ».

5. BICHROMATE DE POTASSIUM, MÜLLER ET TELLYESNICZKY

Le bichromate de potassium entre dans la composition de plusieurs fixateurs, entre autres le liquide de Müller et celui de Tellyesniczky. Le liquide de Müller est un fixateur très régulier, mais lent à cause de sa

(1) RANVIER. — *Loc. cit.*, T. I, p. 81.

transformation partielle en chromate au contact des tissus, ce qui exige qu'on change assez fréquemment les solutions. Mais c'est un mauvais fixateur du noyau, ce à quoi Tellyesniczky voulut remédier en modifiant la formule de Müller (Bichromate de K. : 2 gr. 5, sulfate de soude : 1 gr., eau : 100 cc.) par la suppression du sulfate de soude et l'adjonction d'acide acétique (Bichromate de K. : 3 gr., acide acétique cristallisé : 5 cc., eau distillée : 100 cc.).

Ces deux fixateurs ont des actions très différentes. Le Müller et les solutions de bichromate à 2 ou 3 p. 100 ne provoquent presque pas de déformations. Celles-ci consistent en un simple gonflement de la myéline et un précipité au niveau du cylindre-axe, tandis que le Tellyesniczky provoque des altérations très importantes. La myéline est très gonflée : ses bords se touchent presque et toute son épaisseur est parsemée de granulations irrégulières. Ces altérations semblent dues à l'acide acétique, comme le fait supposer l'action isolée de celui-ci.

E. Burchardt (1) a cru pouvoir faire des différences relativement à la fixation du noyau, entre les différents sels de l'acide chromique. Les bichromates de K, Cs, Rb, Na, Li, Mg, Sr, Zn et celui d'ammoniaque seraient de bons fixateurs du protoplasme, mais mauvais du noyau. Ceux de Ca, Ba, Cu, auraient l'action inverse. Mais, comme on le verra plus loin, l'action des diffé-

(1) E. BURCHARDT. — Bichromate und Zellkern. *La Cellule*, 12, 337, mars 1897.

rents produits employés après la fixation et surtout celle de l'alcool et du xylol ôtent toute importance à ces distinctions, tout au moins dans le cas de la fibre nerveuse.

6. ACIDE ACÉTIQUE

L'acide acétique entre dans la composition de beaucoup de fixateurs (1). Dans un certain nombre de ces fixateurs, c'est à une concentration d'environ 5 % que se trouve l'acide acétique. C'est le titre de la solution que j'ai employée. Son action est très rapide. Au bout de quelques minutes apparaissent des déformations des bords de la myéline qui deviennent très contournés. Des protubérances arrivent au contact les unes des autres en un quart d'heure ou vingt minutes, toute l'épaisseur de la fibre est grisâtre, semée de granulations irrégulières. (*Fig. 2, Pl. II.*)

7. SUBLIMÉ

Comme tous les fixateurs, le sublimé a des partisans (Heidenhain, Mann, etc.) et des adversaires (Fischer, Henneguy). On le trouve en proportions variables dans les liquides de Mann, Rabl, Zenker, von Rath, Brause. Les fixateurs au sublimé ne sont guère employés d'ailleurs en histologie nerveuse. A signaler cependant le fixateur de Cox que celui-ci employa pour

(1) Liquides de Van Beneden et Neyt, Burchardt, Carnoy, Cox, Erlicky, Flemming, Hermann, Lavdowsky, Lenhossek, Rath, Zenker.

les ganglions spinaux (sublimé à saturation : 30 cc., acide osmique à 1 p. 100 : 10 cc., et acide acétique glacial : 5 cc.), à la suite de l'emploi par Braun du mélange d'acide osmique et de sublimé (1) et par Podwyssozki d'un mélange de sublimé et de Flemming.

On reproche au sublimé la facilité avec laquelle il donne des précipités. Il y a là un fait évident, mais dont l'explication est à trouver : presque tous les fixateurs donnent des précipités, mais seuls les précipités dus au sublimé persistent assez souvent après les étapes successives de la technique histologique.

Au contact du sublimé se forme un précipité extrêmement fin d'abord, mais dont les grains augmentent considérablement de volume, au bout d'un quart d'heure environ (2). Ce précipité siège au niveau du cylindre-axe et la myéline présente des déformations assez caractéristiques : elles sont constituées par de fines dentelures, très aiguës et très rapprochées les unes des autres (*Fig. 3, Pl. II.*)

8. SUBLIMÉ ACÉTIQUE

Le sublimé acétique fait apparaître en même temps que les déformations ci-dessus décrites de la myéline, mais plus étalées, moins aiguës qu'avec le sublimé

(1) BRAUN. — Zool. Anz., 458, 1886.

(2) MANN, *loc. cit.*, p. 135, dit : « Sublimate does precipitate proteid matter in a comparatively coarse net and the homogeneous appearance seen either after osmium tetroxide or formaldehyde fixation is absent ».

seul, des vacuoles allongées, en forme de fentes, dans l'épaisseur de la myéline. (*Fig. 4, Pl. II.*)

Si, après qu'on ne voit plus se former de nouvelles altérations, on ajoute une goutte d'acide acétique, les vacuoles apparaissent plus nombreuses. C'est donc bien à l'action de l'acide acétique qu'elles sont dues. Le Flemming et l'acide chromique en faisaient apparaître aussi : mais, dans ce cas, elles sont arrondies, moins allongées. On a vu qu'elles étaient dues pour le Flemming à l'acide chromique. Il y a donc à noter ce fait qu'une vacuolisation apparaît sous l'action de deux acides. A propos du réseau de neurokératine, Nageotte fait la remarque suivante : « Ce phénomène de vacuolisation est intéressant à rapprocher du gonflement régulier qui, dans la fixation par le bichromate acétique, sépare les feuillettes les uns des autres, et étale sans les déformer les travées protoplasmiques qui les traversent. Ces gonflements et ces vacuolisations résultent-ils de la présence de substances spéciales, comme l'ont supposé quelques auteurs, ou bien s'agit-il d'un phénomène différent. Je ne saurais le dire actuellement... » (1). Si, comme le dit Nageotte à plusieurs reprises (2), le réseau de neurokératine doit être considéré comme un artefact, — ce qui ne fait aucun

(1) J. NAGEOTTE. — Les Etranglements de Ranvier et les espaces interannulaires des fibres nerveuses à myéline. *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, XII^e réunion Bruxelles, 1910.

(2) J. NAGEOTTE. — L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie, p. 248, et les Etranglements de Ranvier, p. 38.

doute, — et si d'autre part le bichromate acétique produit cet artefact comme d'autres fixateurs, comment résoudre la difficulté suivante ? Ce bichromate acétique produit des artefacts, comme tous les fixateurs. Mais Nageotte en particulier l'indique comme un excellent fixateur des mitochondries de la gaine de myéline.

Comment donc admettre que la solidarité qui existe entre tous les éléments cellulaires puisse permettre à la fois des artefacts en certains points et une bonne fixation en d'autres, sans qu'il y ait retentissement, sur ces derniers, des artefacts produits au niveau des premiers.

9. LIQUIDE DE BOUIN

C'est un des fixateurs qui détermine les altérations les plus profondes : déformations du bord interne de la myéline, fusion en certains endroits des bords opposés de la myéline, précipité dans toute l'étendue du cylindre-axe que met en évidence la *Fig. 5, Pl. II*.

C'est à propos de l'action de l'acide picrique que l'on trouve dans Mann une des phrases qui caractérisent le mieux le sens de la technique histologique : « Tous les précipités qu'il (l'acide picrique) forme présentent cette particularité qu'ils se dissolvent plus ou moins rapidement en diluant l'acide picrique à saturation avec de l'eau ou en chauffant, ce qui revient au même. Pour cette raison, les tissus qui ont été fixés dans l'acide picrique ne doivent jamais être lavés à l'eau,

mais doivent être immédiatement transportés dans l'alcool à 50 ou 70 % » (1). On ne fait par là que substituer un autre artefact à celui qu'on veut supprimer.

10. FORMOL

Le formol est un des fixateurs les plus employés. Il fait partie de nombreuses formules : liquides de Blum, Hoyer, Lavdowsky, Mann, Parker et Floyd, Sjöbring, Dreyer et Mann, etc. Il entre aussi dans la composition du liquide de Dominici.

Nageotte a décrit certains artefacts qui peuvent être attribués à l'action du formol, par exemple le réseau de neurokératine. « Ce n'est pas, à vrai dire, le formol lui-même qui en est la cause, mais la façon dont nous l'employons; on peut en effet, avec ce fixateur, comme avec l'acide osmique, obtenir à volonté un réseau de neurokératine à mailles grosses ou fines » (2).

La solution de formol que j'ai utilisée est à 10 %. Il y aurait d'ailleurs lieu de déterminer exactement le produit auquel on a à faire, car le produit vendu sous le nom de formol n'est pas toujours le même. Sjöbring

(1) All the precipitates which it forms have this peculiarity, that they dissolve more or less quickly on diluting the saturated picric acid solution with water, or on warming (which amounts to the same). For this reason tissues which have been fixed in picric acid should never be washed in water, but be transferred at once to 50 or 70 per cent alcool. MANN, *loc. cit.*, p. 74.

(2) J. NAGEOTTE. — Note sur le mécanisme de la formation des réseaux artificiels dans la gaine de myéline. *C. R. Soc. Biol.*, 24 décembre 1910.

notamment (1) faisait une différence entre deux produits dont les noms sont donnés comme équivalents par certains auteurs (2), le formol et la formaline. De plus, outre cette différence possible entre des produits sortant de maisons différentes, les solutions de formol sont assez instables. Si en effet, lorsqu'elles sont fraîches, elles correspondent à une solution à 40 % d'aldéhyde formique, elles se transforment, au moins partiellement, en solutions d'acide formique lorsqu'elles sont exposées à l'air et à la lumière.

Enfin, Mann signale l'inconvénient des solutions aqueuses de formol, non rendues isotoniques, qui provoquent le « *swelling* », par exemple, des globules sanguins et des éléments du système nerveux central.

C'est ce gonflement que j'ai observé, gonflement de tout l'ensemble de la fibre, se faisant surtout aux dépens de la myéline. Cette transformation est très rapide, apparaît au bout de quelques minutes et, assez rapidement, reste stationnaire, même si l'on ajoute du formol un certain nombre de fois.

11. ALCOOL AMMONIAQUE

La solution utilisée a été de 5 gouttes d'ammoniaque dans 50 cm³ d'alcool à 90°. C'est celle qu'on emploie

(1) SJÖBRING. — Uber d. Formol als Fixirungsflüssigkeit. *Anat. Anz.*, 17, 273, mars 1910.

(2) LAUNOY, in *Précis de techn. histol.*, donne, comme synonymes d'aldéhyde formique, formol et formaline. — On trouve encore cette synonymie dans le formulaire de Gilbert et Yvon.

pour la fixation des ganglions nerveux à traiter par la méthode de Cajal.

On voit dans la *Fig 1, Pl. III* quelques étapes très caractéristiques des déformations provoquées par ce fixateur sur les fibres à myéline.

L'action spéciale de l'ammoniaque est mise en évidence par l'emploi d'une solution d'ammoniaque à 5 %. On retrouvera des figures analogues lorsqu'il sera question de l'action comparée du carbonate de soude et du xylol.

Cette action goutte à goutte du fixateur donne les mêmes résultats, que le nerf ait conservé ses connexions anatomiques normales, ou qu'il s'agisse d'un fragment de nerf, non dissocié ou dissocié. Dans ces deux derniers cas, par suite de simples tiraillements dans le premier, de nombreux traumatismes dans le second, beaucoup de fibres sont altérées avant l'action du fixateur, surtout si le nerf a été dissocié. Il devient impossible, le plus souvent, de faire la part de ce qui revient au traumatisme, au fixateur ou à l'action combinée des deux. Mais il est toujours un certain nombre de fibres intactes, même dans les nerfs dissociés et, après l'action du fixateur, leur aspect est exactement le même que celui des fibres du nerf ayant conservé ses connexions anatomiques.

Ce fait soulève d'ailleurs une question intéressante, celle de la pénétration des liquides dans le nerf. Son mécanisme intime sera ébauché plus loin. Il n'est question ici que de situer le lieu de pénétration.

Lorsque le nerf est sectionné, il est logique d'admettre que c'est la surface de section. Et, en fait, si l'on emploie un fixateur coloré, tel que le liquide de Bouin, on voit la coloration jaune s'étendre de la partie sectionnée, par où arrive le liquide, vers l'autre extrémité, et les déformations progresser dans le même sens.

Ranvier a conclu de la localisation symétrique des grains d'argent, après nitratisation, au-dessus et au-dessous de l'étranglement, et de la symétrie des stries de Frommann, à la pénétration des liquides par la solution de continuité que présente la gaine de myéline au niveau de l'étranglement « Nous pouvons supposer, dit-il, sans aller trop loin, que c'est par leur intermédiaire que se fait la nutrition du cylindre-axe ». Nageotte pense que cette interprétation générale est excessive. L'imperméabilité de la membrane juxta-myélinique externe, qui ne disparaît qu'après passage à l'alcool, d'où possibilité des colorations, entraînerait comme conséquence la non-pénétration des liquides par l'étranglement tout comme la myéline l'entraînerait au niveau des segments interannulaires (1). Malgré cette imperméabilité de la membrane juxta-myélinique externe, les fixateurs pénètrent à l'intérieur de la fibre nerveuse lorsque le nerf a conservé ses connexions anatomiques. L'opinion de Ranvier semble donc justifiée.

(1) J. NAGEOTTE. — L'organis. de la mat., etc., p. 239, 240, 241, 242

En résumé, l'étude précédente de l'action des fixateurs montre que tous déforment la fibre nerveuse à myéline. Ces déformations varient d'aspect et d'intensité : 1° L'aspect est assez caractéristique pour chaque fixateur et certains corps, agissant seuls, ont une action assez nette pour qu'on puisse la reconnaître dans l'aspect des fibres fixées par des fixateurs composés. Ex. : acide chromique et Flemming. 2° Ces déformations sont progressives : elles augmentent d'intensité avec la durée d'action du fixateur. A partir d'un certain moment, elles restent stationnaires. Mais ce n'est là probablement qu'une conséquence de la trop courte durée des observations précédentes; qu'il est difficile de poursuivre plus de quelques heures. On sait en effet que l'action trop prolongée des fixateurs peut aboutir à la dissociation des tissus. En voici un exemple. Si l'action est suffisamment prolongée, une solution de sublimé de 0,03 à 0,15 p. 100 agit comme dissociateur, ce qui n'arrive pas si la solution dépasse 0,25 %. 3° Les déformations varient beaucoup d'intensité suivant le fixateur employé. Le liquide de Müller, l'acide osmique, le liquide J, de Laguesse, sont ceux qui provoquent les altérations les moins intenses.

B. Action des fixateurs employés suivant la technique histologique

On peut objecter, en ce qui concerne les faits précédemment exposés, que les fixateurs étudiés n'ont pas été employés suivant les règles de la technique histo-

logique. Mais, si on emploie cette technique et si on examine les pièces fixées à la fin du temps d'immersion que réclame chaque fixateur, on observe exactement les mêmes altérations que celles qui ont été décrites ci-dessus.

Il y a là, par conséquent, une contradiction formelle avec les règles de la technique histologique.

Celles-ci concernent plusieurs facteurs. Le *temps de fixation* ne doit être ni trop court, ni trop long, et, suivant Mann, ce sont les solutions contenant de l'acide chromique, de l'acide picrique ou du sublimé qui, par un contact trop prolongé, peuvent dissocier les tissus (1). Pour le Lindsay et le Flemming, il faudrait 1 heure par millimètre d'épaisseur, pour le Bouin 6 à 12 heures, pour le Tellesnitsky de 6 à 24 heures, pour le sublimé un temps variable allant jusqu'au blanchiment des tissus, etc .

L'épaisseur de la pièce à fixer, la température, la concentration, les composants du liquide sont autant de facteurs qui font varier le temps d'immersion.

C'est là une difficulté pratique, mais que je ne discute pas ici, non plus d'ailleurs que les divergences si nombreuses d'opinion relevées chez les auteurs qui ont étudié une méthode de fixation ou de coloration personnelle (2).

Le fait important qui se dégage de cette deuxième

(1) MANN. — *Loc. cit.*, p. 139.

(2) Je ne donne qu'un seul exemple. Le Flemming fixe en une dizaine d'heures. Dans le procédé de Benda pour les mitochondries, la fixation dans le Flemming doit durer 8 jours.

série d'observations est que, malgré les précautions observées, 1° la fixation des fibrés à myéline, telle qu'elle est pratiquée habituellement, en altère profondément la morphologie; 2° il n'y a aucune différence dans les modifications produites par les fixateurs employés suivant deux méthodes, dont l'une est considérée comme mauvaise et l'autre comme bonne.

Enfin, fait le plus important, *ces modifications ne sont pas définitives. Il n'y a pas fixation, au vrai sens du mot.* Les altérations observées sont susceptibles de varier profondément, et notamment sous l'influence des manipulations ultérieures de la technique, en particulier passage dans les alcools progressifs et dans le xylol.

C. Passage dans l'alcool après fixation

Il est impossible de donner une description de ce que l'on voit dans ces conditions. En effet, les modifications provoquées par l'alcool varient avec la concentration de l'alcool. Elles sont d'autant plus intenses que le titre de l'alcool est plus élevé et d'autant plus rapides que l'on emploie plus tôt un alcool d'un titre élevé.

Mais, ici encore, on observe un fait général. C'est que, quels que soient les alcools intermédiaires, on arrive toujours, aux derniers stades du passage par l'alcool, lorsque celui-ci est à 90° ou 95°, à constater des déformations presque semblables, quel qu'ait été le fixateur employé et que celui-ci soit employé par

l'une ou l'autre des deux méthodes étudiées précédemment.

L'aspect alors observé est très voisin de celui qui a été décrit plus haut comme provoqué par l'alcool à 95°.

D. Passage dans le xylol après passage dans l'alcool

C'est le dernier stade de la technique histologique avant le montage, au baume du Canada par exemple. On peut ne pas tenir compte de la coloration qui n'empêche pas de se produire les modifications décrites ci-dessus, comme en témoignent les figures que l'on trouve dans les ouvrages classiques.

Si donc après passage à l'alcool, on soumet la fibre nerveuse à l'action du xylol, toutes les altérations précédemment décrites disparaissent pour faire place à la figure suivante. Les deux bandes de myéline limitant le cylindre-axe deviennent beaucoup plus larges. Elles arrivent presque au contact l'une de l'autre, et ne sont séparées que par une bande très mince représentant le cylindre-axe. La myéline est très réfringente, et est d'une seule coulée, ne présentant pas la moindre granulation. (*Fig. 4, Pl. III.*)

Cette figure diffère considérablement de ce que montre la fibre nerveuse dans le nerf vivant. Il y a donc, relativement à la fibre nerveuse, une triple erreur dans l'appréciation que l'on donne habituellement de la valeur des résultats fournis par la fixation : une première selon laquelle la fixation produit peu de déformations, une deuxième selon laquelle les résul-

tats varieraient beaucoup suivant qu'on observe ou non les règles de la technique, une troisième enfin selon laquelle les résultats obtenus par la fixation ne seraient plus modifiés par les liquides employés après les fixateurs.

Action du xylol après celle de l'acétone. — L'acétone a été quelquefois employé comme fixateur. Mais, comme le fait remarquer Mann (1), il produit une contraction beaucoup plus énergique que l'alcool, ce que j'ai vérifié sur la fibre nerveuse et qui est exact.

La *Fig. 5, Pl. III* représente une fibre nerveuse qui a séjourné pendant 15 jours dans l'acétone pure. Malgré ce séjour prolongé et les altérations considérables produites, le xylol fait disparaître celles-ci complètement et l'on voit apparaître l'aspect déjà décrit, dû à l'action du xylol.

Ces faits semblent dépendre avant tout des modifications de la tension superficielle du complexe que représente la myéline. Celle-ci est riche en lipoïdes et, soit des dissolvants des graisses, tels que le xylol, le benzène, etc., soit les corps susceptibles de former en leur présence des savons, modifieront profondément la tension superficielle de la gaine de myéline.

En ce qui concerne le *benzène*, j'ai observé que son action pouvait aller jusqu'à la dissociation de la myéline en quelques-uns au moins de ses constituants.

Si on laisse un sciaticque dissocié de grenouille dans le benzène pendant 3 jours, on remarque au bout

(1) MANN. — *Loc. cit.*, p. 88.

de ce temps dans l'épaisseur de la fibre, dont l'aspect est profondément modifié, des plaquettes de forme géométrique et qui paraissent être des cristaux de cholestérine. (*Fig. 1, Pl. IV.*)

Les *alcalins* peuvent donner une image de la fibre nerveuse exactement superposable à celle que donne le xylol. L'action d'une solution de $\text{Co}^3 \text{Na}^2$ à 10 % se manifeste d'abord par la formation de boules, de sphères, — les mots ne peuvent donner qu'une représentation très approchée de ces faits, — assez semblables à ce que fait voir l'ammoniaque. Au bout de peu de temps, une demi-heure environ, on obtient une figure absolument identique à celle que donne le xylol.

On verra plus loin (1) qu'il s'agit là d'un ordre de phénomènes absolument général.

Mais, dès maintenant, on peut conclure que les corps tels que le xylol ajoutent de nouvelles altérations à celles qui sont provoquées dans la fibre nerveuse à myéline par les fixateurs. Quelle que soit l'importance de ces altérations dues aux fixateurs, le xylol les ramène toujours à une seule et même figure, celle qui a été décrite plus haut.

Il est donc inexact de dire que les résultats de la fixation sont tels qu'ils ne sont pas modifiés par les manipulations postérieures à la fixation, ce qui est cependant un des buts principaux de la technique histologique. Les déformations produites par le xylol ne sont qu'un cas particulier dans la suite des nombreuses

(1) Cf. Chapitre III; Tension superficielle.

altérations que ne peut pas ne pas produire l'ensemble de cette technique sur des tissus vivants.

Les modifications des réactions chimiques sont en accord avec les modifications morphologiques. Si, par exemple, après avoir laissé quelques jours un nerf dans l'acétone, on le passe par les alcools décroissants, puis à l'eau et enfin à l'acide osmique, celui-ci n'est pas réduit, il n'apparaît aucune coloration grise de la gaine de myéline. C'est donc qu'il a disparu de celle-ci quelque chose qui existe à l'état normal et qui réduit l'acide osmique. Et cependant sur ce nerf altéré par l'acétone, le xylol provoquera l'apparition d'une figure qui a été considérée comme l'image normale de la fibre nerveuse.

Cette image n'est pas plus normale que ne le sont toutes celles qui ont été précédemment décrites. Elle est caractéristique de l'action d'un certain nombre de corps, carbures d'hydrogène ou alcalis, sur les lipoïdes. Et cela est tellement évident que l'action du xylol est la même, qu'elle ait été précédée ou non par celle d'un fixateur.

E. Action du xylol sur la fibre nerveuse à l'état frais

Tandis que l'on considère habituellement que le xylol n'a pas d'autre effet que de permettre le passage de l'alcool au baume, sans que l'on se préoccupe beaucoup d'observer ce que provoque son action, on constate, si l'on suit celle-ci au microscope, que, assez rapidement, se produit l'aspect décrit plus haut comme

caractéristique de l'action d'un certain nombre de corps appartenant au groupe des carbures d'hydrogène ou des alcalis.

Mais cette figure se produit aussi si le xylol agit sur le nerf frais sans que celui-ci ait été fixé au préalable. On a donc étudié pendant longtemps, comme normale, une configuration du nerf absolument artificielle, nettement caractéristique de l'action des corps sus-indiqués : *cette configuration apparaît malgré la fixation dont la valeur par conséquent est absolument nulle.* On a décrit pendant longtemps et représenté comme image réelle de la fibre nerveuse vivante, minutieusement conservée grâce à la technique histologique, un artefact caractéristique de l'action du xylol.

Cette figure ne correspond d'ailleurs qu'à un moment de l'action du xylol sur la myéline et si cette action se prolonge, on obtient une figure comparable à celle qui a été signalée pour le benzène. Au bout de 3 jours, on obtient une image où les points sombres correspondent peut-être à des cristaux de cholestérine.

Si l'on s'en tient à l'image décrite classiquement comme normale, on pourrait objecter que, au contact du xylol, la fibre nerveuse non déshydratée par les alcools progressifs devrait être masquée par un louche qui empêche d'observer une figure aussi nette que celle que j'ai décrite. Mais je n'ai pas observé de louche, et j'ai contrôlé cette observation par l'expérience suivante. Si on écrase un fragment de moelle dans du xylol, on n'a pas de louche, pas plus d'ailleurs que si l'on met en contact du xylol et de l'eau qui ne sont

pas miscibles. Au contraire, si une trace d'alcool est ajoutée, par agitation on obtient un louche, ce qui confirme bien qu'une déshydratation imparfaite d'une pièce histologique par les alcools entraîne la formation d'un louche lorsqu'on la passe au xylol.

Action du xylol après imprégnation au nitrate d'argent. — On pourrait encore objecter que l'on ne se sert pas, en histologie, de pièces qui aient été uniquement fixées, passées au xylol et montées au baume. On colore les pièces, on les soumet à une imprégnation métallique, etc.

Cet argument n'a pas grande valeur puisque dans la méthode de Marchi par exemple on utilise uniquement, avant le montage, un des fixateurs étudiés dans ce travail.

Si on étudie les modifications apportées par l'action des alcools et du xylol aux figures fournies par l'imprégnation au nitrate d'argent, on voit que ces modifications confirment pleinement ce qui a été dit précédemment de l'action du xylol.

Il se forme au début un précipité de grains extrêmement fins, dans toute l'étendue du cylindre-axe. Or celui-ci a au début ses dimensions normales, c'est-à-dire très larges par rapport à la myéline. Puis, sous l'action des alcools et surtout du xylol, ce précipité se condense sous forme d'une étroite bande axiale. Celle-ci est formée de disques alternativement clairs et sombres, d'épaisseur sensiblement égale. Les disques sombres sont formés par une agglomération de grains

d'argent réduit, d'autant plus compacts qu'on est plus près de l'étranglement de Ranvier. A quelque distance de celui-ci, on ne voit plus de disques. Cette disposition a été décrite sous le nom de stries de Frommann qui ne sont qu'un artefact. (*Fig. 2, Pl. IV.*)

CHAPITRE III

Interprétation des résultats expérimentaux

Les faits exposés sont en contradiction avec un certain nombre de notions classiques. Il est donc important, avant d'en chercher l'explication, d'établir qu'ils ne sont passibles d'aucune objection au point de vue technique. La méthode suivie est en effet plus rigoureuse que celles qui ont servi à l'élaboration des nombreux procédés de fixation connus à ce jour.

En effet, la technique de la fixation, par ses conditions, par son but, et par certaines tendances d'esprit qui président assez souvent aux recherches histologiques est soumise à de multiples causes d'erreur.

Les *conditions* dans lesquelles on fixe les tissus sont telles qu'il est impossible, presque toujours, de comparer l'état des tissus frais et celui des tissus fixés. Il s'agit en effet le plus souvent de tissus prélevés sur des organes volumineux. On ne pourrait examiner ces tissus avant fixation qu'après dissection : or il faut

éviter le plus possible les traumatismes, qui provoquent des altérations. Il est donc impossible, le plus souvent, de connaître la morphologie, à l'état frais, des tissus sur lesquels vont agir les fixateurs.

Le *but de la fixation* est de permettre la conservation, le débit en coupes et la coloration des tissus. La fixation apparaît donc comme un procédé, d'une part indispensable, on vient de le voir, et, d'autre part, commode pour l'étude histologique.

De là, certaines *tendances d'esprit* qui consistent à ne voir dans la fixation qu'une étape dans toute la série des manipulations aboutissant à la coupe colorée. On ne s'y intéresse que dans la mesure où elle permet d'atteindre ce but : il est bien certain par exemple que les ouvrages techniques sont beaucoup plus précis sur les inconvénients de tel ou tel fixateur par rapport à tel ou tel colorant que sur ses inconvénients au point de vue morphologique. Cela s'explique aisément d'ailleurs par l'impossibilité où l'on est le plus souvent de pratiquer un examen à l'état frais. Mais, le fait est que la fixation fait partie d'une longue suite de manipulations formant bloc en quelque sorte et qu'on n'examine pas les tissus après chacune d'entre elles.

Pratiquement, on ignore donc le plus souvent ce qui se passe et beaucoup s'y résignent d'autant plus facilement que la technique histologique devient pour eux une fin et non un moyen et qu'elle est un peu comme « *l'art pour l'art* » introduit dans la science.

Les recherches exposées ici échappent à ces cri-

tiques : elles ont porté sur des tissus directement observables à l'état frais, d'où possibilité de comparaison de la morphologie, avant et après fixation.

Les tissus observés avaient conservé leurs connexions anatomiques normales, n'avaient pas subi de dissection, d'où impossibilité d'artefact traumatique.

Enfin, on ne peut pas objecter que les résultats obtenus sont dus à une erreur de technique dans le mode d'emploi des liquides fixateurs puisque les résultats fournis par la méthode classique ont servi de terme de comparaison.

Si, dans ces conditions, on observe des altérations, même en se servant d'une méthode considérée généralement comme la seule possible, et si elles sont identiques, comme on l'a vu, quel que soit le mode d'emploi des fixateurs, c'est que celui-ci n'a pas l'importance qu'on lui accorde. C'est la nature même du fixateur employé qui, seule, compte. On trouve bien certaines indications à ce sujet dans les ouvrages techniques : on dit de tel ou tel fixateur qu'il *déforme, rétracte, gonfle* les tissus. Mais les altérations observées se sont ici montrées constantes, et non pas seulement dans certains cas; de plus par leur variété et leur aspect caractéristique, dans chaque cas, de l'action d'un fixateur spécial, elles exigent un essai d'interprétation plus complet que celui qu'on fait habituellement des artefacts de la fixation. Il ne suffit pas de dire qu'il y a eu déshydratation trop brutale, par exemple, car une même explication ne peut pas s'appliquer à des cas aussi différents les uns des autres.

Il faut d'ailleurs éviter un écueil dans cet essai d'interprétation : il ne faut pas chercher une explication complète, impossible dans l'état actuel de nos connaissances, du mécanisme intime de la fixation. On sait en effet que la fixation équivaut à une coagulation et on pourrait être tenté de faire l'application, à ce cas particulier, de ce qu'on sait de la coagulation des colloïdes en général. Mais les colloïdes dont il s'agit ici sont des albuminoïdes et présentent des caractères spéciaux : ils forment en particulier, par coagulation, des gels irréversibles. C'est là un fait important au point de vue de la technique histologique. On peut même dire que cette irréversibilité du coagulum, qui répond à cette condition d'une « *bonne* » fixation que le tissu fixé ne doit pas se *défixer* au cours des manipulations ultérieures, explique qu'on ait trouvé tant de *bons* fixateurs.

Laisant donc de côté ce qui se rapporte au mécanisme intime de la coagulation, je voudrais seulement exposer quelques observations sur le mode de pénétration des liquides fixateurs : elles font disparaître la contradiction apparente, signalée précédemment, entre la nécessité de l'emploi des fixateurs suivant certaines règles classiques et l'absence de relation entre les résultats obtenus et l'observation de ces règles.

Le schéma de la membrane semi-perméable ne s'applique pas aux cellules animales. — Comme le faisait remarquer M. Lapique à son cours, le schéma de l'osmomètre a été appliqué en biologie par H. de Vries

aux cellules végétales, comportant une vacuole. Ce n'est pas le cas pour les cellules animales. Les expériences précédentes me semblent confirmer entièrement l'observation de M. Lopicque.

En effet, suivant le schéma de l'osmomètre, on conçoit qu'« il y a un courant du dissolvant de la solution ayant la plus faible concentration vers celle dont la concentration est la plus grande. Les molécules du corps dissous se disputent pour ainsi dire le dissolvant à travers une membrane qui ne les laisse pas passer » (1).

On peut évidemment concevoir, comme cela a été fait, une explication de la coagulation uniquement d'après les variations de la pression osmotique. Mais si, seules, ces variations intervenaient dans la fixation de la fibre nerveuse, les figures obtenues devraient être identiques à condition que les concentrations des fixateurs fussent les mêmes. Or, à concentration égale, deux fixateurs différents donnent deux images différentes, et un même fixateur, à des concentrations différentes, donne des images semblables. Ce qui le prouve bien, c'est que, lorsqu'on emploie le fixateur goutte à goutte, par dilution dans le Ringer qui baigne le nerf, ou lorsqu'on l'emploie en grande quantité, les concentrations sont très différentes et que les images obtenues, comme on l'a vu, sont semblables. Enfin, on

voit les fixateurs colorés (ex : acide picrique) pénétrer à l'intérieur de la fibre nerveuse.

L'absence d'unité dans la concentration des fixateurs, choisie empiriquement, s'accorde parfaitement avec ces faits. Si, seule, intervenait l'hémiperméabilité des membranes, il suffirait, dans les cas des albuminoïdes, de solutions centinormales pour amener la coagulation (1) et des solutions beaucoup plus concentrées entraîneraient des modifications importantes dans l'aspect morphologique, ce qui n'est pas. Les solutions fixatrices employées ont en général des concentrations très différentes les unes des autres. Le bichromate de potasse a pour poids moléculaire 294,50. Les solutions employées pour la fixation sont en moyenne à 2 %. Elles sont donc sensiblement décinormales. Le bichlorure de platine (poids moléculaire : 407,50) est employé dans le liquide B de Laguesse à la concentration de 1 %, mais pour moitié seulement dans le volume total, ce qui donne une concentration approximative de 5 p. 1.000, soit une solution à peu près centinormale. Quant aux solutions de sublimé elles sont à des concentrations qui varient beaucoup suivant les solutions et peut-être faut-il voir là une des raisons des différences d'opinions émises par les auteurs au sujet de la valeur de ce fixateur. A la température de 15°, la solubilité du sublimé est de 70 p. 1.000. Les liquides, alcalin et acide, de Carnoy, contiennent 100 cc. de solution saturée de sublimé pour un volume total de

(1) J. DUCLAUX. — Les Colloïdes, p. 196.

105 cc., ce qui correspond presque exactement à la concentration de 70 p. 1.000. Or cette concentration est très inférieure à la concentration normale qui serait de 200 p. 1.000. Dans le mélange de Zenker, la concentration est d'environ 50 p. 1.000 et dans celui de von Rath environ de 35 p. 1.000.

En résumé, les altérations provoquées par la fixation ne s'expliquent pas par les variations de la pression osmotique, indépendamment de tout autre facteur. Cela tient à ce que les membranes animales en général, celles du nerf et de la fibre nerveuse en particulier, sont perméables et que les sels en dissolution pénètrent à l'intérieur des cellules.

Que deviennent les ions des solutions d'électrolytes une fois qu'ils ont pénétré dans la fibre nerveuse ? On pourrait encore être tenté ici de ne faire appel qu'à des considérations physiques, et de faire une application, à ce cas particulier, de ce qu'on sait actuellement de l'adsorption.

Depuis longtemps, en effet, les sels de métaux lourds sont considérés comme les meilleurs fixateurs et l'on sait d'autre part que c'est pour ces sels-là, parmi les sels minéraux (1), que l'adsorption est la plus intense. On sait encore que c'est pour les solutions les plus

(1) Il faut en effet mettre à part les corps organiques de la série grasse, les composés aromatiques et les matières colorantes dont l'adsorption est plus forte que celle des métaux lourds et qui sont classés ici dans un ordre d'adsorption croissante.

diluées que l'adsorption est la plus forte et si la fixation dépend du contact des sels avec le contenu de la cellule, on pourrait expliquer par là que les solutions très diluées de fixateurs agissent comme les solutions plus concentrées et qu'il est extrêmement difficile de débarrasser les tissus de toute trace du fixateur, même à l'aide de nombreux lavages.

Mais là encore interviennent des réactions extrêmement complexes, des combinaisons chimiques entre les sels et le coagulum, dont l'importance est connue, puisque certaines colorations possibles après certains fixateurs sont impossibles après d'autres.

Le seul fait intéressant à retenir des règles connues de l'adsorption est ce qui se rapporte à l'adsorption sélective. On a vu que les déformations sont caractéristiques pour chaque fixateur et la sélectivité de l'adsorption paraît être le seul fait général qui soit ici susceptible d'une application.

RÔLE DE LA TENSION SUPERFICIELLE

Sans entrer dans l'étude théorique des variations de la tension superficielle susceptibles d'expliquer certains des faits exposés, je voudrais simplement signaler quelques expériences qui sont d'autant plus intéressantes qu'elles portent sur des corps gras, indépendamment de toute structure anatomique.

Les modifications de la myéline sous l'influence des anesthésiques, étudiées par Lapique et R. Legendre, montrent bien toute l'importance des actions de sur-

face qui sont liées au contact de deux complexes tels que la myéline et le cylindre-axe. Les faits exposés ci-dessous ne font que confirmer ce qu'ils ont observé.

On dépose à la surface de l'eau contenue dans une cuve à fond noir, une goutte d'huile d'olive. Celle-ci s'étale. Si on approche de cette goutte étalée l'ouverture d'un flacon que l'on vient de vider de son contenu de chloroforme, en tenant le flacon à pleine main de façon à en échauffer légèrement les parois et à favoriser la sortie des vapeurs de chloroforme, on voit la goutte s'étaler brusquement jusqu'aux limites de la cuve. Il se produit un abaissement de la tension superficielle de la goutte d'huile. C'est un phénomène du même genre qui se produit par action du xylol : il y a étalement de la myéline.

C'est encore à des modifications de la tension superficielle qu'il faut rattacher les modifications produites par l'action de Co^3Na^2 , signalées précédemment.

L'action du chloroforme sur la myéline se manifeste en dehors de la fibre nerveuse. On a vu que, comme cela avait été signalé depuis longtemps, en particulier par Ranvier, la myéline par écrasement donne naissance à des sphères. Celles-ci, par l'action de l'alcool à 95°, prennent un aspect cristallisé analogue à ce que l'on constate dans la fixation de la fibre nerveuse par l'alcool à 95°. (*Fig. 4, Pl. IV.*)

Si, après action de l'alcool, on soumet la myéline à l'action prolongée du Ringer, l'aspect cristallisé disparaît et on voit réapparaître les sphères.

Si, sur la myéline à l'état de sphères, on fait agir du chloroforme, on voit les sphères se déformer et prendre l'aspect de sortes de massues allongées, à double contour. (*Fig. 4, Pl. IV.*)

On peut, avec différents mélanges artificiels, retrouver des modifications comparables. On fait, par exemple, un mélange de 0 gr. 10 de cholestérine, 0 gr. 20 de lécithine, 5 gr. d'huile d'olives qu'on agite fortement avec 10 gr. d'eau albumineuse (1). On ajoute à ce mélange 30 gr. de liquide de Bouin. En laissant reposer le tout, on voit surnager assez rapidement à la surface du liquide une sorte de magma. Si on en prélève une parcelle et qu'on l'écrase entre lame et lamelle on obtient une préparation qui, par adjonction d'une goutte de xylol, suivie d'écrasement, donne la *Fig. 3, Pl. IV.*

On verse dans un verre de montre un mélange de lanoline et de xylol, puis sur les bords du verre de montre une solution saline quelconque de faible concentration. Celle-ci vient former, au centre de la large goutte de xylol + lanoline une goutte moins large. Si alors on verse goutte à goutte, tout autour de la goutte de xylol + lanoline, du xylol, la goutte formée par la solution saline diminue considérablement de diamètre.

(1) Ces chiffres n'ont rien d'absolu et ne figurent ici qu'à titre d'indication.

Action de la cocaïne. — On verse, dans un verre de montre, sur de l'eau distillée, 3 gouttes d'huile de cèdre. Elles ne se fusionnent pas. Si on ajoute dans l'eau distillée quelques gouttes de cocaïne au 1/50^e, les gouttes d'huile de cèdre se fusionnent.

On verse dans un verre de montre, dans de l'eau distillée, une goutte d'un mélange d'huile d'olives, cholestérine, lécithine, analogue à celui qui a été signalé plus haut. Si on regarde au microscope (obj. 8) on voit que le bord de la goutte du mélange est formé par une sorte de frange animée d'un mouvement de retrait. Si alors on verse au centre de la goutte du mélange 1 goutte de cocaïne à 1 p. 200, les déformations du bord de la goutte et son mouvement de retrait disparaissent.

Si, dans de l'eau distillée additionnée de quelques gouttes d'alcool absolu, on verse une goutte d'huile de cèdre, celle-ci s'étale jusqu'aux bords du verre de montre, tandis que s'il n'y a pas d'alcool, elle s'étale beaucoup moins. Si alors on verse dans l'eau additionnée d'alcool quelques gouttes de cocaïne au 1/50^e, en chaque point où l'on verse 1 goutte, il se produit une encoche dans le bord de la goutte d'huile de cèdre.

CONCLUSIONS

Une certain nombre de règles techniques admises comme nécessaires en histologie semblent procéder de considérations *a priori* et ne se vérifient pas expérimentalement. Si, au lieu de considérer la *fixation* comme un ensemble dont le résultat, lorsque les règles sus-indiquées sont respectées, est de permettre la conservation des tissus, leur manipulation et leur coloration, tout en n'altérant pas leur morphologie, on observe les pièces histologiques après chaque étape de la fixation, on arrive aux conclusions suivantes :

1° Tous les fixateurs déforment les fibres nerveuses à myéline, plus ou moins.

Chaque fixateur provoque des déformations spéciales et caractéristiques de son action.

2° L'acide osmique et le liquide de Müller sont les fixateurs qui déforment le moins la fibre nerveuse à myéline.

3° On obtient exactement les mêmes résultats soit

qu'on emploie la méthode de fixation classique, soit qu'on emploie les fixateurs en petite quantité, et lentement, goutte à goutte.

4° La myéline, après l'action des fixateurs, est toujours beaucoup plus épaisse qu'à l'état frais; le cylindre-axe, profondément altéré, est beaucoup moins large. On a donc sous les yeux une image inexacte, et qui correspond d'ailleurs parfaitement au schéma classique de la fibre à myéline, une fois qu'après la fixation on l'a soumise à l'action des alcools progressifs et du xylol.

5° En effet, bien que les altérations provoquées par les fixateurs soient toujours considérables, sauf en ce qui concerne l'acide osmique et le Müller, et dans tous les cas, même celui de ces deux derniers fixateurs, le xylol ramène toujours les déformations à un seul et même type : myéline très large, d'une seule coulée, sans granulations, cylindre-axe très étroit.

6° Cette action du xylol est constante et se produit même indépendamment de toute action antérieure d'un fixateur.

7° L'interprétation complète de ces faits, d'après les données physico-chimiques, est impossible dans l'état actuel de nos connaissances. Cependant, on peut conclure des faits observés que les lois de l'osmose à travers les membranes semi-perméables ne s'appliquent pas à la fixation. Les membranes de la fibre nerveuse sont perméables; c'est ce fait qui, joint à des phénomènes d'adsorption, de combinaisons chimiques, et à des variations de la tension superficielle,

permet de considérer que la fixation ne peut pas respecter l'intégrité morphologique cellulaire. C'est n'est qu'en comparant, sur des tissus très minces permettant l'examen direct, sans coupes préalables, l'aspect morphologique à l'état frais et après fixation, qu'on peut, d'une façon certaine, juger de la qualité d'un fixateur.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
CHAPITRE I. — Examen de la fibre nerveuse à myé- line à l'état frais.	11
CHAPITRE II. — Action des fixateurs.	17
A. <i>Action des fixateurs employés goutte à goutte</i>	18
1. Alcool	18
Eau alcoolisée à 9 %	19
2. Solution alcoolique de Soudan III.	20
3. Acide osmique	21
4. Acide chromique et Flemming.	23
5. Bichromate de potassium Müller et Tellyes- niczky	24
6. Acide acétique	26
7. Sublimé	26
8. Sublimé acétique	27
9. Liquide de Bouin	29
10. Formol	30
11. Alcool ammoniacal	31
B. <i>Action des fixateurs employés suivant la tech-</i> <i> nique histologique</i>	34
C. <i>Passage dans l'alcool après fixation.</i>	36
D. <i>Passage dans le xylol après passage dans</i> <i> l'alcool</i>	37
E. <i>Action du xylol sur la fibre nerveuse à l'état</i> <i> frais</i>	40
<i>Action du xylol après imprégnation au nitrate</i> <i> d'argent.</i>	42
CHAPITRE III. — Interprétation des résultats expé- rimentaux	44
Rôle de la tension superficielle	51
Action de la cocaïne	54
CONCLUSIONS	55

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

1° *Influence du climat alpin sur la structure des végétaux.*

2° *Géologie : Conditions de gisement des eaux minérales des Alpes Françaises.*

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 5 Mars 1923.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPELL.

PLANCHES

FIG. 1. **Action de l'alcool à 95°.** On voit dans la dernière fibre à droite le réseau qu'on peut assimiler au réseau de neurokératine.

FIG. 2. **Action de l'eau alcoolisée à 9%.** A remarquer l'écartement considérable des bords des incisures.

FIG. 3. **Action d'une solution alcoolique de Soudan III.** Vacuolisation intense de la myéline qui s'étale en coulées très fluides.

FIG. 4. **Action de l'acide osmique.** L'acide osmique déforme peu la gaine de myéline. On n'observe qu'une coloration gris foncé de toute l'épaisseur de la gaine et de nombreuses granulations fines de tout le cylindre-axe.

FIG. 5. **Action de l'acide chromique.** Les premières déformations qu'on voit dans la 2^e fibre à partir de la gauche apparaissent au bout de 2 ou 3 minutes. C'est un des fixateurs qui provoquent les altérations les plus marquées.

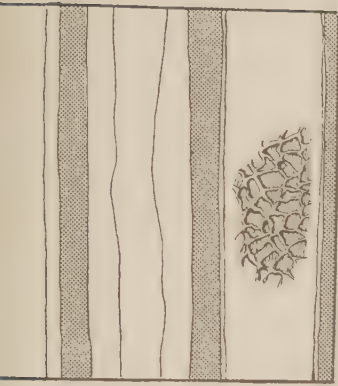


FIG. 1.



FIG. 2.



FIG. 3.



FIG. 4.

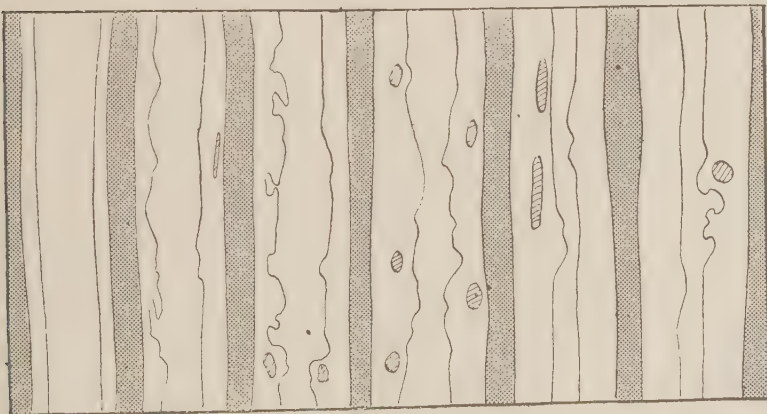


FIG. 5.

FIG. 1. **Action du liquide de Flemming.** Déformations tout à fait comparables à celles que produit l'acide chromique.

FIG. 2. **Action de l'acide acétique.** Des protubérances arrivent au contact les unes des autres. Au bout d'une vingtaine de minutes, toute l'épaisseur de la fibre est grisâtre, semée de granulations.

FIG. 3. **Action du sublimé.** Le précipité est formé de granulations remarquable par leurs dimensions.

FIG. 4. **Action du sublimé acétique.** Formation de vacuoles allongées en formes de fentes dans l'épaisseur de la myéline.

FIG. 5. **Action du liquide de Bouin.** C'est un des fixateurs qui déforment le plus la gaine de myéline.

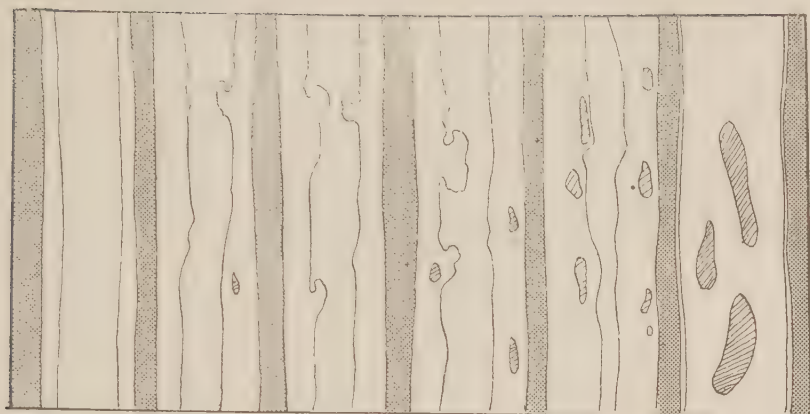


FIG. 1.



FIG. 2.



FIG. 3.



FIG. 4.



FIG. 5.

FIG. 1. **Action de l'alcool ammoniacal.**

FIG. 2. **Action de l'ammoniaque.**

FIG. 3. **Action d'une solution de carbonate de soude.** A remarquer la ressemblance des fig. 2 et 3. Dans les deux cas agissent des alcalins.

FIG. 4. **Action du xylol après action de l'alcool.** La 1^{re} fibre est la fibre à l'état frais. La 2^e est la même fibre après passage dans l'alcool. La 3^e a été transportée de l'alcool dans le xylol. Toutes les déformations dues à l'action des fixateurs disparaissent sous l'action du xylol.

FIG. 5. **Action du xylol après action de l'acétone.**

FIG. 1. **Aspect d'une fibre ayant séjourné 3 jours dans le benzène.** Les plaquettes de forme géométrique sont des cristaux de cholestérine.

FIG. 2. **Action du xylol après imprégnation au nitrate d'argent.** Cette figure permet de voir les différents stades de la formation de l'artefact décrit sous le nom de *stries de Frommann*.

FIG. 3. **Etalement d'un mélange artificiel de lipoïdes écrasé entre lame et lamelle, après adjonction d'une goutte de xylol.**

FIG. 4. **Aspects que prend la myéline par écrasement dans un liquide physiologique ou de l'eau (*sphères*) — par action de l'alcool (*réseau*) — par action du chloroforme (*massues*).**



FIG. 1.

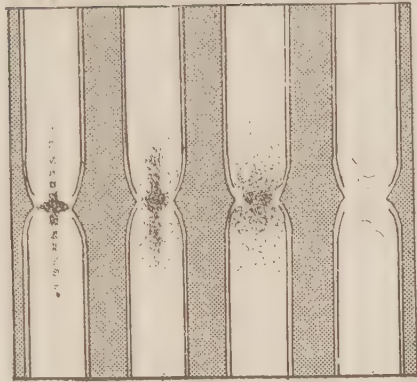


FIG. 2.

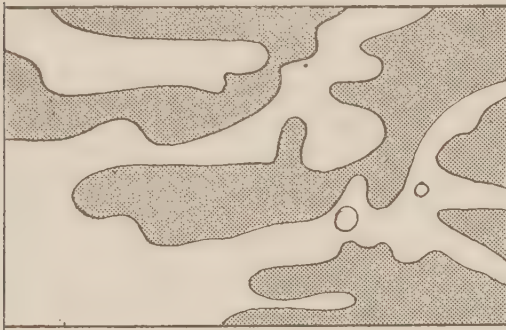


FIG. 3.

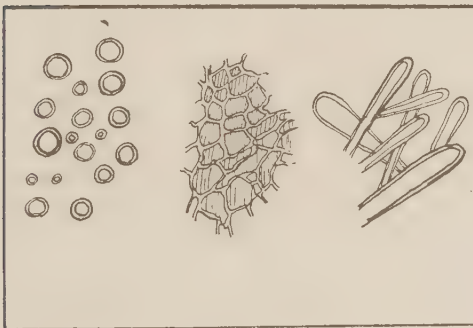


FIG. 4.

